

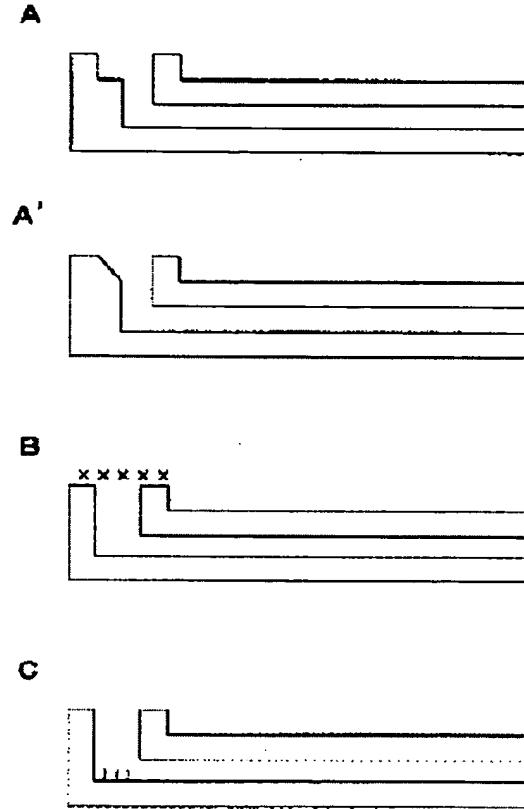
**MEASURING APPARATUS AND MEASURING METHOD FOR SPECIMEN**

**Patent number:** JP2002196001  
**Publication date:** 2002-07-10  
**Inventor:** AMADA TAKESHI; NAKAMURA TAKEKI  
**Applicant:** SHINO TEST CORP  
**Classification:**  
- **international:** G01N33/543; G01N1/00  
- **European:**  
**Application number:** JP20010331719 20010921  
**Priority number(s):** JP20010331719 20010921; JP20000329683 20000922

[Report a data error here](#)

**Abstract of JP2002196001**

**PROBLEM TO BE SOLVED:** To provide a measuring apparatus and a measuring method capable of carrying out accurate measurement by trapping bubbles by a bubble intrusion suppressing means even when bubbles causing measurement interference are generated in a measurement of a substance to be inspected inside a sample and preventing interference of the measurement due to inhibition of a reaction between substances participating in a measurement reaction by the bubbles. **SOLUTION:** In this measuring apparatus for a substance to be inspected inside a sample, a sample feeding part and a determining part are connected by a passage having a space surrounded by walls comprising a non-water absorbing material. The measuring apparatus and the measuring method using this measuring apparatus is characterized by that the sample feeding part has the bubble intrusion suppressing means.



Data supplied from the [esp@cenet](mailto:esp@cenet) database - Worldwide

**BEST AVAILABLE COPY**

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開2002-196001

(P2002-196001A)

(43)公開日 平成14年7月10日 (2002.7.10)

(51)Int.Cl.<sup>7</sup>

G 0 1 N 33/543  
1/00

識別記号

5 2 1  
1 0 1

F I

G 0 1 N 33/543  
1/00

マーク-ト\*(参考)

5 2 1 2 G 0 5 2  
1 0 1 G

審査請求 未請求 請求項の数14 書面 (全 12 頁)

(21)出願番号 特願2001-331719(P2001-331719)

(22)出願日 平成13年9月21日 (2001.9.21)

(31)優先権主張番号 特願2000-329683(P2000-329683)

(32)優先日 平成12年9月22日 (2000.9.22)

(33)優先権主張国 日本 (JP)

(71)出願人 000131474

株式会社シノテスト

東京都千代田区神田神保町一丁目56番地

(72)発明者 天田 武志

神奈川県相模原市大野台二丁目29番14号

株式会社シノテスト相模原事業所内

(72)発明者 中村 雄樹

神奈川県相模原市大野台二丁目29番14号

株式会社シノテスト相模原事業所内

最終頁に続く

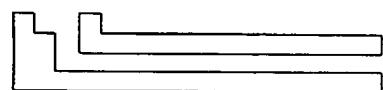
(54)【発明の名称】 被検物質の測定器具及び測定方法

(57)【要約】

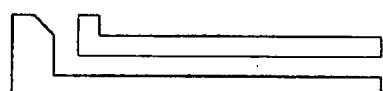
【目的】試料中の被検物質の測定において、測定妨害の原因となる気泡が発生しても、この気泡侵入抑制手段によって気泡を捕捉し、気泡が測定反応に関与する物質間の反応を阻害することにより測定が妨害されることなく、正確な測定が行える測定器具及び測定方法を提供する。

【構成】試料中の被検物質の測定器具であって、試料供給部及び判定部が非吸水性の材質からなる壁で囲まれた空間を有する通路で結ばれた測定器具において、該試料供給部が気泡侵入抑制手段を有することを特徴とする測定器具及びこの測定器具を用いた測定方法。

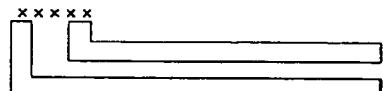
A



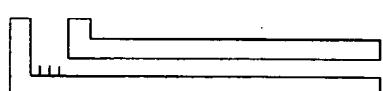
A'



B



C



## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 試料中の被検物質の測定器具であって、試料供給部及び判定部が非吸水性の材質からなる壁で囲まれた空間を有する通路で結ばれた測定器具において、該試料供給部が気泡侵入抑制手段を有することを特徴とする測定器具。

【請求項2】 前記気泡侵入抑制手段が、前記試料供給部に設けられた障害物であることを特徴とする、請求項1に記載の測定器具。

【請求項3】 前記試料供給部に設けられた障害物が、該試料供給部の下部が上部よりも狭くなっているものであることを特徴とする、請求項2に記載の測定器具。

【請求項4】 前記試料供給部に設けられた障害物が、該試料供給部に配置した網状体であることを特徴とする、請求項2に記載の測定器具。

【請求項5】 前記試料供給部に設けられた障害物が、該試料供給部に配置した突起状体であることを特徴とする、請求項2に記載の測定器具。

【請求項6】 前記判定部が試料中の被検物質に対する特異的結合物質が固定されて該特異的結合物質により被覆されていることを特徴とする、請求項1～5のいずれか1項に記載の試料中の被検物質の測定器具。

【請求項7】 前記被検物質が抗原であり、前記特異的結合物質が抗体である、請求項1～6のいずれか1項に記載の試料中の被検物質の測定器具。

【請求項8】 前記被検物質が抗体であり、前記特異的結合物質が抗原である、請求項1～6のいずれか1項に記載の試料中の被検物質の測定器具。

【請求項9】 請求項1に記載の測定器具を使用し、該試料供給部に試料を接触させた後に、該判定部におけるシグナルにより被検物質の測定を行う測定方法。

【請求項10】 前記気泡侵入抑制手段が、前記試料供給部に設けられた障害物によるものであることを特徴とする、請求項9に記載の測定方法。

【請求項11】 前記試料供給部に設けられた障害物が、該試料供給部の下部が上部よりも狭くなっているものであることを特徴とする、請求項10に記載の測定方法。

【請求項12】 前記試料供給部に設けられた障害物が、該試料供給部に配置した網状体であることを特徴とする、請求項10に記載の測定方法。

【請求項13】 前記被検物質が抗原であり、前記特異的結合物質が抗体である、請求項9～12のいずれか1項に記載の試料中の被検物質の測定方法。

【請求項14】 前記被検物質が抗体であり、前記特異的結合物質が抗原である、請求項9～12のいずれか1項に記載の試料中の被検物質の測定方法。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明の属する技術分野】 本発明は、試料中の被検物質

を測定するための測定器具及び測定方法に関するものである。本発明は、特に化学、生命科学、食品衛生、環境科学及び臨床検査等の分野において有用なものである。

## 【0002】

【従来の技術】 試料中の被検物質を測定するための測定器具としては、種々のものが開発されている。なかでも、簡易測定器具を用いたものが汎用されている。この簡易測定器具は、紙、メンブレンフィルター又はプラスティック等に試葉等を塗布又は含浸等により含有させ、乾燥させることにより製造されている。また、このような簡易測定器具では、判定部が試料供給部を兼ねる場合と、試料供給部に接触させた試料等を判定部に移動させる場合がある。これらの簡易測定器具を用いた場合に、試料供給部に接触させた試料等を判定部に移動する方法としては、例えば、測定器具の判定部側を傾斜させて下方に向ける、試料供給部と判定部を結ぶ通路の内部に圧力をかける、毛細管現象の利用等が挙げられる。

【0003】 この様に、試料供給部に接触させた試料等を判定部に移動させる場合、試料供給部に試料等を接触させる際に、気泡が試料供給部より空間を有する通路に侵入してしまうことがあった。この場合、気泡が試料の移動を妨げたり、判定部上に気泡が留まってしまうことにより、この気泡が測定反応に関与する物質間の反応を阻害したり、判定部におけるシグナルを見にくくするといったことにより測定を妨害することがあった。また、試料を直接判定部に接触させる場合にも、気泡が判定部の試薬層の上を覆ってしまい、この気泡が測定反応に関与する物質間の反応を阻害したり、判定部におけるシグナルを見にくくするといったことにより、測定を妨害することがあった。

【0004】 また、本発明者らは、特開平10-227794号公報に記載されているように、試料中の被検物質の有無を粒子が前記被検物質に対する特異的結合物質で被覆された部分（判定部）において凝集するか否かにより判定する測定方法を発明している。この公報には測定方法の一形態として、試料及び粒子を判定部に移動させるための非吸水性の材質からなる壁で囲まれた空間を有する通路を具備した測定器具を用い、磁性粒子に磁石を作用させることや、前記測定器具を傾けて粒子に重力40を作用させること等により、該磁性粒子又は該粒子を前記空間内を判定部に沿って移動させて測定を行う測定方法が挙げられている。この測定方法において、試料または粒子を添加する際に気泡がこの空間内に侵入してしまうと、この気泡が粒子の通路を塞いでしまい粒子が判定部に移動するのを妨げることや、更にはこの気泡が判定部に入り込んでしまうことにより、判定部における粒子の凝集反応を阻害することや、凝集反応を見にくくするといったことにより測定に支障を来してしまい、結果として正確な診断が行えないことがあった。

## 【0005】

【発明が解決しようとする課題】従って、本発明の課題は、非吸水性の材質からなる壁で囲まれた空間を有する通路を用いて判定部に試料、試薬等を供給することにより、測定を行う試料中の被検物質の測定器具及び測定方法において、測定の妨害となる気泡の前記空間内への侵入を抑制する手段を提供することである。

【0006】

【課題を解決するための手段】本発明は、試料中の被検物質の測定器具であって、試料供給部及び判定部が非吸水性の材質からなる壁で囲まれた空間を有する通路で結ばれた測定器具において、該試料供給部が気泡侵入抑制手段を有することを特徴とする測定器具である。

【0007】また、本発明の測定器具は、前記気泡侵入抑制手段が、前記試料供給部に設けられた障害物であることが好ましい。

【0008】更に、本発明の測定器具においては、前記試料供給部に設けられた障害物が、該試料供給部の下部が上部よりも狭くなっているものであることが好ましい。

【0009】また、本発明の測定器具においては、前記試料供給部に設けられた障害物が、該試料供給部に配置した網状体であることが好ましい。

【0010】更に、本発明の測定器具においては、前記試料供給部に設けられた障害物が、該試料供給部に配置した突起状体であることが好ましい。

【0011】また、本発明の測定器具においては、前記判定部が試料中の被検物質に対する特異的結合物質が固定されて該特異的結合物質により被覆されていることが好ましい。

【0012】更に、本発明の測定器具においては、前記被検物質が抗原であり、前記特異的結合物質が抗体であることが好ましい。

【0013】また、本発明の測定器具においては、前記被検物質が抗体であり、前記特異的結合物質が抗原であることが好ましい。

【0014】更に、本発明は、試料供給部が気泡侵入抑制手段を有し、かつ該試料供給部と判定部が非吸水性の材質からなる壁で囲まれた空間を有する通路で結ばれた測定器具を使用し、該試料供給部に試料を接触させた後に、該判定部におけるシグナルにより被検物質の測定を行う測定方法である。

【0015】そして、本発明の測定方法においては、前記気泡侵入抑制手段が、前記試料供給部に設けられた障害物によるものであることが好ましい。

【0016】また、本発明の測定方法においては、前記試料供給部に設けられた障害物が、該試料供給部の下部が上部よりも狭くなっているものであることが好ましい。

【0017】更に、本発明の測定方法においては、前記試料供給部に設けられた障害物が、該試料供給部に配置

した網状体であることが好ましい。

【0018】そして、本発明の測定方法においては、前記被検物質が抗原であり、前記特異的結合物質が抗体であることが好ましい。

【0019】また、本発明の測定方法においては、前記被検物質が抗体であり、前記特異的結合物質が抗原であることが好ましい。

【0020】

【発明の実施の形態】(1) 試料中の被検物質の測定器具

10

(1) 測定の方法

本発明の測定器具による試料中の被検物質の測定の方法としては、シグナルにより被検物質の測定を行うことができるものであれば、どの様な測定の方法を用いてもよく、例えば、光学的測定方法、免疫学的測定方法等の測定の方法を用いることができる。

20

【0021】光学的測定方法としては、試料と試薬とを反応させて生成した反応生成物の量を光学的に測定する方法が一般的に良く知られている。この光学的測定方法では、例えば、酵素の触媒活性等によって色原体から色素等を生成させ、この生成した色素等の量を光学的測定装置を用いたり、又は目視により測定することにより試料中の被検物質の量又は活性を測定することができる。

20

【0022】更に、免疫学的測定方法としては、抗原抗体反応を利用して試料中の被検物質の有無又は量を測定する方法を挙げることができる。

20

【0023】また、本発明の測定器具は、特開平10-227794号公報に記載されているような、試料中の被検物質の有無を粒子が被検物質に対する特異的結合物質で被覆された部分(判定部)に集まるか否かにより判定する測定方法にて使用することが特に好ましい。この測定方法は、試料及び粒子を判定部に移動させるための非吸水性の材質からなる空間を有する通路を具備した測定器具を用い、磁性粒子に磁石を作用させることや、測定器具を傾けて粒子に重力を作用させること等により、該磁性粒子又は該粒子をこの空間内を判定部に沿って移動させて測定を行うものである。

30

【0024】ここで、被検物質に対する特異的結合物質(以下、特異的結合物質ということがある)とは被検物質に対し親和性を有する物質をいい、被検物質との特異的な相互作用により該被検物質に非共有結合的に安定に結合する物質をいう。例えば、特異的結合物質は、被検物質が抗原の場合にはその抗体であり、被検物質が抗体の場合にはその抗原又はその抗体に対する抗体であり、被検物質がヌクレオチド鎖の場合にはそれと相補的なヌクレオチド鎖である。ここで、抗体とは、抗体から作られる断片、例えば、F(ab)、及びF(ab')<sub>2</sub>等も含まれる。また、被検物質がリガンドの場合にはそのレセプターである。

40

【0025】(2) 被検物質

50

本発明において測定を行う被検物質としては、タンパク質、糖質、脂質、核酸のような有機物質、金属のような無機物質等を挙げることができる。具体的には、HBs抗原、抗HBs抗体、HBe抗原、抗HBe抗体、抗HBc抗体、抗HCV抗体、抗HAV抗体、抗ATLV抗体等のウイルス関連の抗原又は抗体；大腸菌O157抗原、抗トレボネーマ・パリダム(TP)抗体、抗マイコプラズマ抗体、抗ストレプトリジンO抗体(ASO)等の細菌関連の抗原又は抗体；免疫グロブリンG(1gG)、免疫グロブリンA(1gA)、免疫グロブリンM(1gM)、若しくは免疫グロブリンE(1gE)等の免疫グロブリン；C反応性タンパク質(CRP)、 $\alpha$ 1-酸性糖タンパク質、ハプトグロビン、補体C3、補体C4、リウマトイド因子等の炎症マーカー； $\alpha$ -フェトプロテイン、CEA、CA19-9等の腫瘍マーカー；ヒト胎盤絨毛性ゴナドトロピン等のホルモン；アレルゲン、アレルゲン特異1gE抗体等のアレルギー関連の抗原又は抗体；抗トロンビンIII(ATIII)等の血液凝固系関連物質；フィブリリン体分解物(FDP)、Dダイマー等の線溶系関連物質；ABO式血液型抗体、不規則抗体等の血液型関連の抗原又は抗体；ウイルスのDNA又はRNA；細菌のDNA又はRNA；ヒト等の動物若しくは植物のDNA又はRNA；リボタンパク質(a)、フェリチン等の他の疾病に関連した物質；薬物；金属；毒物又は劇物等を例示することができる。

#### 【0026】(3) 試料

本発明において、試料とは、前記の被検物質が存在する可能性があり、且つその被検物質の存在の有無の確認又は場合によっては定量を行おうとする液状のものをいう。例えば、ヒト又は動物の血液、血清、血漿、尿、精液、髄液、唾液、汗、涙、腹水、羊水等の体液；ヒト若しくは動物の脳等の臓器、毛髪、皮膚、爪、筋肉、又は神経組織等の抽出液；ヒト又は動物の糞便等の抽出液又は懸濁液；細胞或いは菌体の抽出液；植物の抽出液；穀物、野菜、果物、魚介類、肉類又は加工食品等の食品、水、茶、コーヒー、牛乳、又は果汁等の飲料、そして、飲料水、河川水、湖沼水、海水、又は土壤の懸濁液等の環境分析用試料等が挙げられる。

#### 【0027】(4) 測定器具

本発明の試料中の被検物質の測定器具は、試料供給部及び判定部が非吸水性の材質からなる壁で囲まれた空間を有する通路で結ばれた測定器具において、該試料供給部が気泡侵入抑制手段を有する測定器具である。また、本発明の測定器具は、該試料供給部に接触させた試料等の溶液(液体)が該通路の中を判定部の方向に移動することができる限りいずれの形状、構造でもよい。

【0028】本発明の測定器具の試料供給部と判定部を結ぶ通路となる空間を囲む壁の材質は、非吸水性の材質のものであれば何ら制限されず、例えば、ガラス、ポリスチレン、ポリ塩化ビニル、ポリアクリレート、ポリブ

ロビレン、ナイロン、ポリエチレン、ポリカーボネート、ポリメタクリレート等の非吸水性の材質が挙げられる。また、本発明の測定器具の他の部分(箇所)の材質としては、前記非吸水性の材質または吸水性の材質のものを適宜用いることができる。

#### 【0029】① 試料供給部

本発明において、試料供給部は試料等の液体を受入れた後に前記通路内に供給することができれば、いずれの形状であってもよい。

#### 【0030】② 気泡侵入抑制手段

本発明においては、前記試料供給部が気泡侵入抑制手段を有する。ここで、気泡侵入抑制手段とは、該試料供給部に試料等を接触させた際に、気泡が非吸水性の材質よりなる壁で囲まれた空間を有する試料供給部と判定部を結ぶ通路に侵入するのを抑制できるものをいい、例えば、該試料供給部に障害物を設けること等が挙げられる。

【0031】また、本発明において、該試料供給部に障害物を設ける場合、この障害物としては、該試料供給部の下部が上部よりも狭くなっている構造のものであることが好ましい。この場合、該試料供給部の上部(入口)に試料等の液体を接触させると、入り口部分に気泡のみが捕捉され、気泡以外の液体は入口より下部に流れしていくため、前記通路への気泡の侵入を防ぐことができる。

図1-Aは、このような構造の気泡侵入抑制手段を有する測定器具の例を示したものである。更に、本発明の測定器具においては、図1-A'に示すように、該試料供給部が広い部分(上部)から狭い部分(下部)にかけて徐々に狭くなるように設計しても良い。

#### 【0032】

また、本発明の測定器具において、該試料供給部に障害物を設ける場合、この障害物としては、該試料供給部に配置された網状体であることが好ましい。ここで、網状体としては、例えば、ネット状のもの、又は非吸水性の多孔質体等を挙げることができる。また、網状体を配置する場所としては、例えば、試料供給部の上部(入口)等に配置すればよい。この場合、該試料供給部の上部(入口)に配置された網状体に試料等の液体を接触させると、網状体部分に気泡のみが捕捉され又は、気泡がはじけることにより、気泡以外の液体は網状体より下部に流れしていくため、前記通路への気泡の侵入を防ぐことができる。

なお、粒子を用いた測定方法の場合は、前記網状体は、粒子が容易に通過でき、かつ気泡は通過できず捕捉されない程度の隙間を有していることが好ましい。図1-Bは、このような網状体の気泡侵入抑制手段を有する測定器具の例を示したものである。

#### 【0033】

更に、本発明の測定器具において、該試料供給部に障害物を設ける場合、この障害物としては、該試料供給部に配置された突起状体であることが好ましい。ここで、突起状体としては、例えば、接触させた試料等の液体中の気泡のみを捕捉し、気泡以外の液体は通

路内を判定部の方向に移動できるような形状であればどのようなものでもよい。また、突起状体を配置する場所としては、該通路内を試料等が判定部にスムーズに移動できるような場所であればよく、例えば、該試料供給部の下部等に配置すればよい。この場合、試料等の液体を該試料供給部に接触させると、突起状体部分に気泡のみが捕捉され又は、気泡がはじけることにより、気泡以外の液体は該通路を判定部の方向に流れいくため、前記通路への気泡の侵入を防ぐことができる。図1-Cは、このような突起状体の気泡侵入抑制手段を有する測定器具の例を示したものである。

#### 【0034】③ 判定部

本発明において判定部とは、試料中の被検物質の有無又は量に応じてシグナルを生じる物質を存在（配置）させたものをいう。シグナルを生じる物質としては、光学的測定法により測定を行う場合には、基質、酵素、補酵素等の被検物質より色素等を生成させる反応に関する成分を挙げることができる。また、免疫学的測定方法により測定を行う場合には、被検物質に対する特異的結合物質等の被検物質と抗原抗体反応を起こす成分を挙げることができる。更に、必要があれば非特異的反応を抑制するため、ウシ血清アルブミン、ヒト血清アルブミン、カゼイン又はその塩等の各種タンパク質、脱脂粉乳等を特異的結合物質を固定した判定部などに接触させること等の公知の方法により、該判定部をマスキングしてもよい。なお、判定部は、一つでもよいし、又は複数あってもよい。

#### 【0035】④ 空間を有する通路

本発明の測定器具において試料供給部及び判定部を結ぶ非吸水性の材質からなる壁で囲まれた空間を有する通路とは、試料供給部に接触させた試料等の液体を判定部に移動させることができるものである。また、前記通路には、試料等の液体が通路の内部をスムーズに通過できるように空気孔が設けてあってもよい。

#### 【0036】(4) 試料吸収部

本発明における測定器具には、判定部に接触させた試料を吸収除去する試料吸収部を配置することもできる。この試料吸収部としては、多孔性吸収体、例えば、ろ紙、ペーパータオル若しくはティッシュペーパー等の紙類、グラスファイバーフィルタ、高分子吸収体、スポンジ等の多孔質体、レーヨン若しくはポリエステル等の化学繊維、布、不織布又は綿等の液体を吸収する性質を持つ材料よりなるものであればどのようなものを用いても良い。なお、この試料吸収部の形状、大きさについては特に制限はない。

【0037】また、この試料吸収部が測定器具に配置される位置としては、判定部に被検物質を含む試料を接触させた後に、前記測定器具の該判定部から前記試料が吸収除去される位置であればどこに配置してもよい。また、測定器具として板状体を使用する場合、試料吸収部

を、例えば、該測定器具の判定部の端部、又は該判定部に隣接した位置等に配置すればよい。例えば、試料が判定部の上をスムーズに移動できるように、試料が移動していく方向、即ち判定部の水平方向から試料を吸収させることができるように試料吸収部を配置するのが好ましい。

【0038】なお、試料吸収部は、試料を接触させた後に、取り外せるように配置しても良い。更に、試料吸収部を脱着可能な形態、又はカートリッジ等の形態にして、試料吸収部を何度も交換できるようにしても良い。

#### 【0039】(2) 本発明による試料中の被検物質の測定方法

本発明による試料中の被検物質の測定方法は、以下のような操作により行えばよい。

【0040】本発明による測定方法においては、試料供給部及び判定部が非吸水性の材質からなる壁で囲まれた空間を有する通路で結ばれた測定器具であり、該試料供給部が気泡侵入抑制手段を有する測定器具を使用する。測定の操作としては、まず、該試料供給部に被検物質の存在が疑われる試料を接触させる。

【0041】試料は、例えば希釈液により希釈して判定部に接触させることもできる。試料の希釈液としては、トリス（ヒドロキシメチル）アミノメタン緩衝液、リン酸緩衝液、リン酸緩衝生理食塩水等の各種緩衝液又は生理食塩水等を用いることができる。なお、この緩衝液のpHについては、pH 4～12の範囲内にあることが好ましい。

【0042】また、試料の希釈液には、ウシ血清アルブミン、ヒト血清アルブミン、カゼイン、又はその塩等の各種タンパク質、塩化ナトリウム等の各種塩類、各種糖類、脱脂粉乳、正常ウサギ血清等の各種動物血清、アジ化ナトリウム等の各種防腐剤、非イオン性界面活性剤、両イオン性界面活性剤、陰イオン性界面活性剤等の各種界面活性剤等の添加剤を適宜加えて用いることができる。

【0043】そして、これらの添加剤を加える際の濃度は特に限定されるものではないが、0.001～10% (w/v) が好ましく、特に0.01～5% (w/v) が好ましい。

【0044】また、界面活性剤としては、ソルビタン脂肪酸エチル、グリセリン脂肪酸エチル、デカグリセリン脂肪酸エチル、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エチル、ポリオキシエチレングリセリン脂肪酸エチル、ポリエチレングリコール脂肪酸エチル、ポリオキシエチレンアルキルエーテル、ポリオキシエチレンフィトステロール、ポリオキシエチレンフィトスタノール、ポリオキシエチレンアルキルフェニルエーテル、ポリオキシエチレンヒマシ油、硬化ヒマシ油、ポリオキシエチレンラノリン等の非イオン性界面活性剤、酢酸ベタイン等の両性界面活性剤又はポリオキシエチレンアルキ

ルエーテル硫酸塩若しくはポリオキシエチレンアルキルエーテル酢酸塩等の陰イオン性界面活性剤等を挙げることができる。

【0045】上記のように、測定器具の試料供給部に接触させた試料を、前記通路を毛管現象又は担体を傾けること等により判定部の方向へ移動させる。この後、判定部におけるシグナルを測定することにより、試料中の被検物質の有無又は量を測定する。

【0046】また、特開平10-227794号公報等に記載されているよう、試料中の被検物質の有無を粒子が特異的結合物質で被覆された部分（判定部）において凝集するか否かにより判定する測定方法により、本発明の測定を行う場合には粒子を用いる。この場合、上記のように、試料供給部に試料を接触させた後に、試料を非吸水性の材質からなる壁で囲まれた空間を有する通路を毛細管現象又は担体を傾けること等により判定部の方向へ移動させ、判定部に接触させることにより試料中の被検物質を、判定部上に被覆され固定された特異的結合物質に結合させる。その後、判定部に接触させた試料を除去する。ここで、判定部に接触させた試料の除去は、液体を吸収する性質を持つ材料よりなる試料吸収部を設けて試料を吸収させたり、ビペット等で試料を吸い取ること等により行うことができる。更に、被検物質に対する特異的結合物質が固定された粒子を該判定部に接触させる。前記粒子を判定部に接触させる場合には、粒子を試料供給部に接触させた後、該粒子を判定部に沿って移動させることにより接触させればよい。また、判定部に直接粒子を接触させてもよい。また、前記の粒子を判定部に沿って移動させることは、磁性粒子に磁石を作用させることや、前記測定器具を傾け粒子に重力を作用させること等により、該磁性粒子又は該粒子を前記通路内を判定部に沿って移動させることにより行うことができる。更に、磁石を作用させる場合の磁石としては、磁場を発生して磁性粒子を磁化するものであればいずれのものでもよく、永久磁石、電磁石等を用いればよい。また、磁束密度は、用いる磁性粒子と担体の面との相互作用に依存するが、通常、5~100ガウスである。

【0047】また、本発明において粒子としては、例えば、リボソーム、ラテックス粒子、ゼラチン粒子、ポリアクリルアミド粒子、マイクロカプセル、エマルジョン等の有機高分子粒子、ガラスビーズ、シリカビーズ、ペントナイト等の無機高分子粒子、他の人工粒子、又は赤血球等を用いることができる。

【0048】また、粒子として磁性粒子を用いることもできる。この磁性粒子は、少なくとも外部から磁石を作用させている間は磁化する粒子であればよい。この磁性粒子としては、例えば、鉄、コバルト、ニッケル等の強磁性金属、これらの強磁性金属を含む合金、非磁性体中に強磁性金属又は強磁性金属を含む合金を含有するもの、強磁性金属中又は強磁性金属を含む合金中に非磁性

体を含有するもの等の強磁性体を単独で粒子状に成形した粒子、強磁性体を核としてその表面をポリスチレン、シリカゲル、ゼラチン、ポリアクリルアミド等の高分子物質で被覆した粒子、ポリスチレン、シリカゲル、ゼラチン、ポリアクリルアミド等の高分子物質の粒子を核として強磁性体を被覆した粒子、赤血球、リボソーム又はマイクロカプセル等の閉じた袋状の物質に強磁性体を封入した粒子等を挙げることができる。なお、この磁性粒子は、外部から磁石を作用させている間は磁化し、外部からの磁石の遮断により速やかに減磁する性質を持つものであることが特に好ましく、そのような磁性粒子としては、例えば、強磁性体である酸化鉄（III）（Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>）を粒子内に分散させた磁性粒子である「Dynabeads M-450 uncoated（商品名）（ダイナル社製）」が挙げられる。

【0049】更に、粒子としては、色素を被覆するか又は色素を粒子中に分散若しくは封入させることにより着色したものを使用してもよい。

【0050】粒子の粒子径は、好ましくは0.01~100μmであり、特に好ましくは0.5~10μmである。また、粒子の比重は、分散媒中で沈降する比重であれば良く、例えば比重1~10のものが好ましい。

【0051】また、本発明において粒子を用いた測定を行う場合には、特異的結合物質を固定した粒子を用いる。ここで、特異的結合物質を粒子に固定するには、特異的結合物質を前記の粒子の表面に、疎水結合、親水吸着等の物理的吸着法、共有結合等の化学的結合法又はこれらの方の併用等により行うことができる。また、粒子に固定する特異的結合物質は、被検物質を介しての結合が可能であれば、判定部に固定する特異的結合物質とそれ同一でも異なってもよい。

【0052】また、特異的結合物質の粒子又は測定器具の判定部とする箇所への固定量を変更することにより、試料中の被検物質の濃度の高低に応じて容易に感度を変更することができる。例えば、粒子又は測定器具の判定部とする箇所に特異的結合物質を固定する際に、高濃度の特異的結合物質を用いれば固定量が多くなって感度を高めることができる。

【0053】また、粒子に特異的結合物質を固定する際には、粒子に複数種類の被検物質に対する特異的結合物質を同時に固定させても良いし、又は複数種類の被検物質に対する特異的結合物質をそれぞれ別々の粒子に固定させても良い。

【0054】なお、必要があれば非特異的反応を抑制するため、ウシ血清アルブミン、ヒト血清アルブミン、カゼイン又はその塩等の各種タンパク質、脱脂粉乳等を特異的結合物質を固定した粒子に接触させること等の公知の方法により、該粒子をマスキングしてもよい。

【0055】更に、特異的結合物質を固定した粒子のかわりに、被検物質又はその類縁体を固定させた粒子を用

いても良い。ここで、被検物質の類縁体とは、被検物質の一部分、被検物質に別の物質が結合したもの、被検物質の構造の一部分が置換されたもの等であって、被検物質の特異的結合物質と結合する部分の構造を有し、特異的結合物質に結合することができる物質のことである。例えば、被検物質が抗原の場合、この抗原の抗原決定基を含む物質をこの被検物質の類縁体として挙げることができる。

【0056】また、粒子は、例えば適當な分散媒に分散して測定器具に接触させることができる。粒子の分散媒としては、トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン緩衝液、リン酸緩衝液、リン酸緩衝生理食塩水等の各種緩衝液又は生理食塩水等を用いることができる。なお、この緩衝液のpHについては、pH4~12の範囲内にあることが好ましい。

【0057】また、この粒子の分散媒には、上記の試料の希釈液として記載した添加剤をそれぞれ適宜加えて用いることができる。そして、これらの添加剤を加える際の濃度は特に限定されるものではないが、0.001~10% (w/v) が好ましく、特に0.01~5% (w/v) が好ましい。

【0058】上記のように、粒子を測定器具の(特異的結合物質により被覆された)判定部に沿って移動させた後、この面の判定部における粒子の分布状態(シグナル)から被検物質の有無を測定する。この担体の判定部上の粒子の分布状態、即ち像(シグナル)は、容易に肉眼により、あるいは吸光度測定やパターン認識によるマイクロプレートリーダー等の光学的読み取り装置により確認し、測定することができる。

#### 【0059】(3) 確認試験

なお、本発明の測定器具及び測定方法は、確認試験に使用することができる。確認試験とは、即ち、試料中の被検物質の測定において試料中に被検物質が存在する(陽性)と測定された場合に、その測定結果が真に被検物質の存在によるものか、又は非特異的反応によるものかを確認するための試験のことである。本発明の測定器具及び測定方法は、試料中の被検物質を特異的結合物質により吸収して測定を行う、通常の確認試験に適用することができる。

#### 【0060】

【実施例】以下、本発明を実施例により説明するが、本発明はこれらの実施例に限定されるものではない。

#### 【0061】(実施例1)

(気泡侵入抑制効果の確認) 本発明の測定器具を用いて試料供給部に試料及び粒子を接触させた場合に、気泡が通路内に侵入するかどうかを確かめた。

##### (1) 本発明及び比較例の測定器具の作製

###### ① HBs抗原測定器具Aの作製

アクリル樹脂押出板1(幅10mm、奥行き38mm、厚さ1mm)(アクリサンダー社製)の手前の端から1

5mmより18mmの部分(図2の3の位置)に、抗HBs抗体溶液(シノテスト社製の抗HBs抗体を、5μg/mlの濃度でpH7の10mMリン酸緩衝液に溶解したもの)20μlを、ピペットを用いて載せて接触させ、37℃で3時間静置することにより固定化を行った。次いで、溶液をピペットで吸引除去後、0.5% (w/v) カゼインを含むトリス緩衝液(pH7.5, 50mM)(以下、これを希釈液Aという)0.3mlをここに加えて、4℃で一晩放置し、これをピペットで吸引除去することによりマスキングを行い、判定部3とした。次に、図2のAに示すように、中央に2本の枠4(奥行き16mm、高さ0.5mm、枠間の間隔5mm)を形成した透明板よりなるカバー2(幅12mm、奥行き40mm、厚さ2.5mm)及び試料吸収部8(ペルクリンE2、鐘紡社製、厚さ2mmのものを幅4mm、奥行き5mmに裁断したもの)を、前記のアクリル樹脂押出板1の上に、図2のAに示すように組み合わせて、図3のAに示すアクリル樹脂押出板1とカバー2で囲まれた高さ0.5mm、奥行き16mm、幅5mm

20 の空間を有する通路6が設けられた測定器具を作製した。この測定器具のカバー2に設けられた開口部5(幅5mm、奥行き2mm、厚さ2.5mm)が試料供給部5となる。なお、図2のBはカバー2の横断面図、図2のCはカバー2を裏側から見た図である。更に、図2のAに示すように、中央部に前記試料供給部と同じ大きさの穴を空け、かつ、この穴の片側面が上部にかけて広がるように成型した透明な障害物7(幅7mm、奥行き8mm、高さ1mm)を、前記試料供給部5の上にアクリル接着剤で張り付け、気泡抑制手段とした。これをHBs抗原測定器具Aとした。なお、図3のBはHBs抗原測定器具Aの縦断面図である。

###### ② HBs抗原測定器具Bの作製

図4のAに示すように、気泡抑制手段として、成型した障害物の代わりに、ポリプロピレン製ネット9(NBCI工業社製、24メッシュのものを幅8mm、奥行き8mmに裁断したもの)を、前記試料供給部5の上にアクリル接着剤で張り付け、気泡抑制手段としたこと以外は、HBs抗原測定器具Aと同形同質のHBs抗原測定器具Bを作製した。なお、図4のBはHBs抗原測定器具Bの斜視図であり、図4のCはHBs抗原測定器具Bの縦断面図である。

###### ③ HBs抗原測定器具Cの作製

図5のAに示すように、カバーを中央に2本の枠4(奥行き16mm、高さ0.5mm、枠間の間隔5mm)を形成した透明板よりなるカバー2'(幅12mm、奥行き40mm、厚さ2.5mm)に変えたこと以外は、前記①のHBs抗原測定器具Aと同様にして、HBs抗原測定器具Cを作製した。なお、図5のBはカバー2'の横断面図、図5のCはカバー2'を裏側から見た図であり、図6のAはHBs抗原測定器具Cの斜視図、図6の

BはHBs抗原測定器具Cの縦断面図である。

④ HBs抗原測定器具Dの作製

図7のAに示すように、気泡抑制手段として、成型した障害物の代わりに、ポリプロピレン製ネット9(NBC-I工業社製、24メッシュのものを幅8mm、奥行き8mmに裁断したもの)を、試料供給部5の上にアクリル接着剤で張り付け、気泡抑制手段としたこと以外は、前記③のHBs抗原測定器具Cと同形同質のHBs抗原測定器具Dを作製した。なお、図7のBはHBs抗原測定器具Bの斜視図であり、図7のCはHBs抗原測定器具Bの縦断面図である。

⑤ 比較例のHBs抗原測定器具E及びFの作製

図8及び図9に示すように、比較例として、試料供給部5に気泡抑制手段を配置しないこと以外はHBs抗原測定器具A～Dと同形同質のHBs抗原測定器具E及びFを作製した。なお、図8及び図9のBはHBs抗原測定器具E及びFの斜視図であり、図8及び図9のCはHBs抗原測定器具E及びFの縦断面図である。

【0062】(2) 抗HBs抗体固定粒子の作製

粒子(磁性粒子)【Dynabeads M-450 uncoated、ダイナル社製、粒径:4.5μm、粒径のC.V.5%以下、比重1.5、濃度3%(w/v)】1mlを、抗HBs抗体溶液(シノテスト社製、pH7.0の10mMリン酸緩衝液に濃度0.1mg/mlで溶解したもの)1mlと混合したものを用意し、37℃で30分間反応させた。これに前記希釈液Aを約20倍量加えてマスキングを行ない、得られた粒子を希釈液Aにて洗浄した。この粒子を濃度が約0.1%(w/v)となるように希釈液Aに再分散させた。このようにして、抗HBs抗体固定粒子分散液を調製した。

【0063】(3) 気泡侵入抑制効果の確認

HBs抗原及び抗HBs抗体が共に陰性である血液に、HBs抗原溶液(明治乳業社製のHBs抗原を、pH7.2の10mMリン酸緩衝液に40μg/mlの濃度で溶解したもの)を1ng/mlになるように添加して試料を調製した。この試料50μlを、上記(1)で作製したHBs抗原測定器具A～Fの各試料供給部5にピペットを用いて載せて判定部3に接触させた。これにより試料は、前記測定器具A～Fの通路6内に移動し判定部3に接触し、試料中のHBs抗原が判定部3に固定された抗HBs抗体と結合した。この後、試料は試料吸収部8に吸収された。その後、上記(2)で作製した抗HBs抗体固定粒子の分散液50μlを、前記測定器具A～Fの各試料供給部5にピペットを用いて気泡が生じるように載せ、気泡が前記通路6内に侵入するかどうかをみた。その結果、HBs抗原測定器具A～Dでは、試料供給部に試料を接触させた場合と、前記粒子の分散液を接触させた場合のいずれも、気泡のみが試料供給部5の上部に配置された気泡抑制手段に捕捉されることにより、前記通路6への気泡の侵入が抑制されることが確認

できた。これに対して、気泡抑制手段を配置していない比較例のHBs抗原測定器具E及びFでは、試料供給部5に試料を接触させた場合と、粒子の分散液を接触させた場合のいずれも、気泡が通路6の内部に侵入してしまった。

【0064】(実施例2)

(血液試料中のHBs抗原の測定)

(1) HBs抗原測定器具の作製

実施例1の(1)と同様にして、HBs抗原測定器具Aと同形同質の測定器具を作製した。

【0065】(2) 抗HBs抗体固定粒子の作製

実施例1の(2)と同様にして抗HBs抗体固定粒子を作製した。

【0066】(3) HBs抗原の測定

HBs抗原及び抗HBs抗体が共に陰性である血液に、HBs抗原溶液(明治乳業社製のHBs抗原を、pH7.2の10mMリン酸緩衝液に40μg/mlの濃度で溶解したもの)を1ng/mlになるように添加して試料を調製した。この試料50μlを、上記(1)で作製したHBs抗原測定器具Aの試料供給部5にピペットを用いて載せて判定部3に接触させた。これにより試料は、前記測定器具Aの通路6内に移動し判定部3に接触し、試料中のHBs抗原が判定部3に固定された抗HBs抗体と結合した。この後、試料は試料吸収部8に吸収された。この判定部3に接触させたHBs抗原陽性血液が試料吸収部8に吸収除去された後、上記(2)で作製した抗HBs抗体固定粒子の分散液をこのHBs抗原測定器具Aの試料供給部5にピペットを用いて気泡が生じるように載せて判定部に接触させた。その後、このHB

20 s抗原測定器具Aの判定部3が形成された側面方向に磁石を配置することにより、抗HBs抗体固定粒子が移動するようにこのHBs抗原測定器具Aの空間を有する通路6の底面の抗HBs抗体が固定されていない部分から抗HBs抗体が固定されている判定部方向に磁束密度40～60ガウスの磁場を発生させた。磁場を発生させてから3分間以内に図10に示すように判定部3に粒子の像が認められた。これにより、試料中にHBs抗原が存在することが確認できた。なお、HBs抗原陰性血清を試料として用いて測定した場合には粒子の像は認められ

30 40 なかつた。

【0067】

【発明の効果】本発明の測定器具及び測定方法によれば、試料供給部に試料等の液体を接触させる際に気泡が発生しても試料供給部に配置した気泡侵入抑制手段によって気泡が捕捉されるため、気泡が試料の移動を妨げたり、判定部上に気泡が留まること等によって、この気泡が測定反応に関与する物質間の反応を阻害したり、判定部におけるシグナルを見にくくするといったことにより測定が妨害されることがなく、正確な測定が行える。また、試料中の被検物質の有無を粒子が特異的結合物質で

50

被覆された部分（判定部）に集まるか否かにより判定する測定方法においても、試料供給部に試料または粒子等の液体を接触させる際に気泡が発生しても試料供給部に配置した気泡侵入抑制手段によって気泡が捕捉されるため、この気泡が粒子の通路を塞いでしまい粒子が判定部に移動するのを妨げることや、更にはこの気泡が判定部に入り込んでしまうことにより、判定部における粒子の凝集反応が阻害することや、凝集反応を見にくくするといったことを防ぐことができ、正確な測定が行える。

## 【図面の簡単な説明】

【図1】気泡侵入抑制手段を有する測定器具を示す図である。

【図2】気泡侵入抑制手段を有する測定器具を示す図である。

【図3】気泡侵入抑制手段を有する測定器具を示す図である。

【図4】気泡侵入抑制手段を有する測定器具を示す図である。

【図5】気泡侵入抑制手段を有する測定器具を示す図である。

【図6】気泡侵入抑制手段を有する測定器具を示す図である。

\*ある。

【図7】気泡侵入抑制手段を有する測定器具を示す図である。

【図8】気泡侵入抑制手段を有しない測定器具を示す図である。

【図9】気泡侵入抑制手段を有しない測定器具を示す図である。

【図10】測定器具の判定部における粒子の凝集像を示す図である。

## 10 【符号の説明】

1 : アクリル板

2 : カバー

2' : カバー

3 : 判定部

4 : 棒

5 : 試料供給部

6 : 空間を有する通路

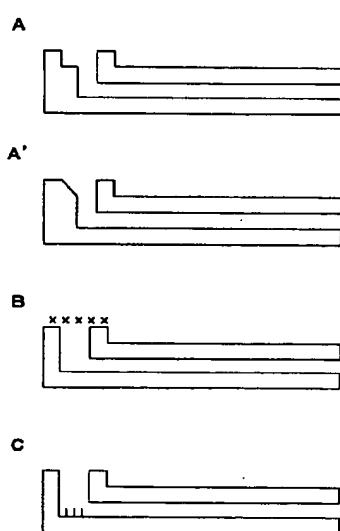
7 : 障害物

8 : 試料吸収部

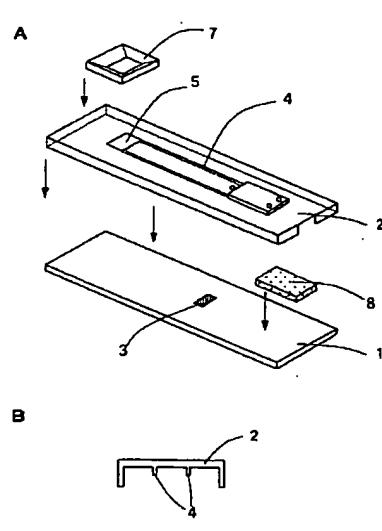
9 : ネット

20

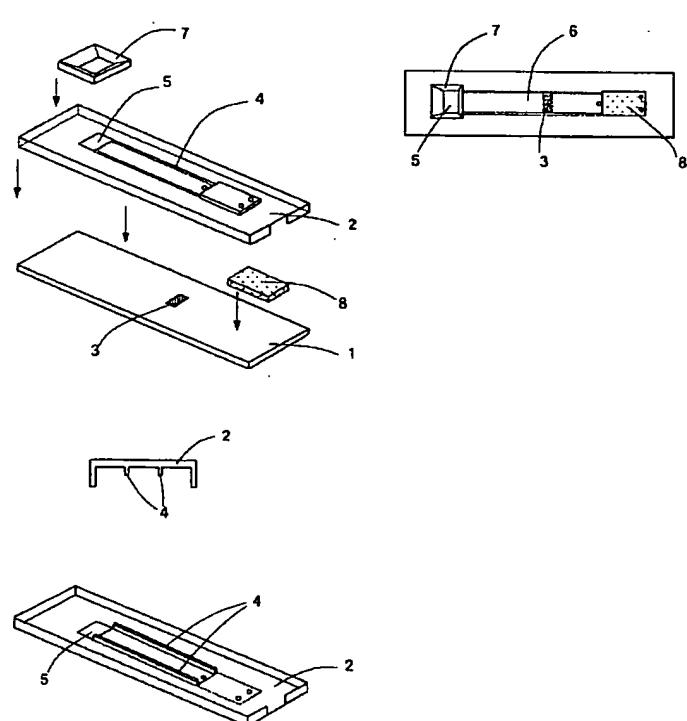
【図1】



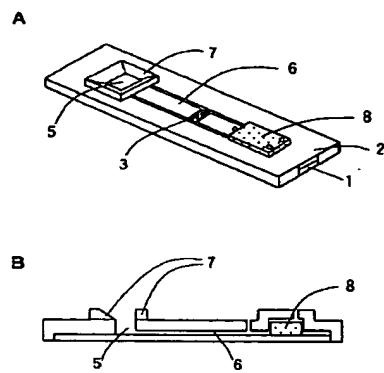
【図2】



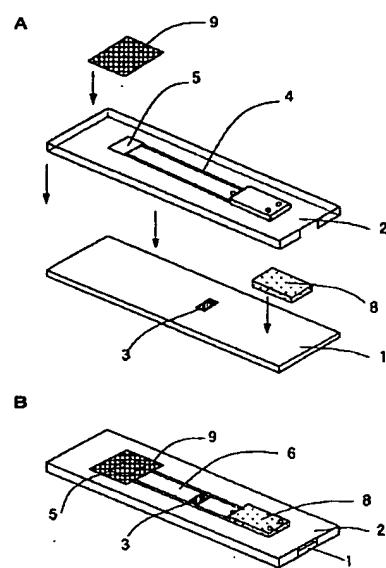
【図10】



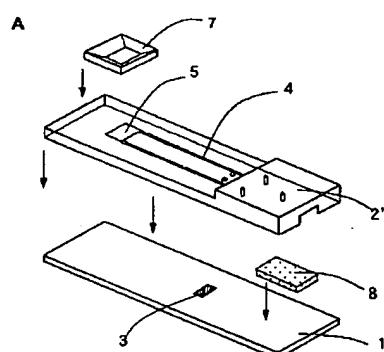
【図3】



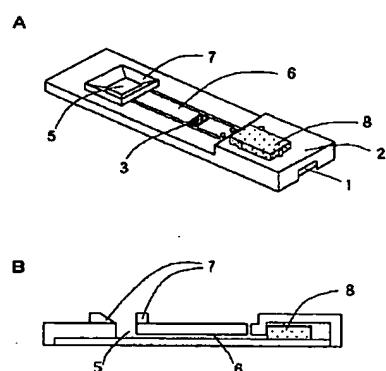
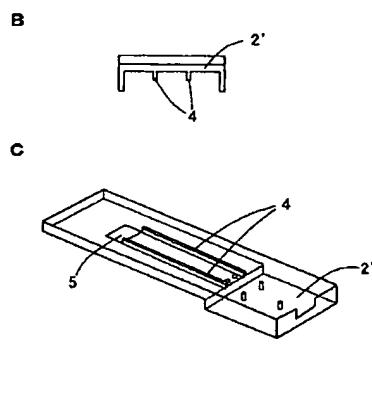
【図4】



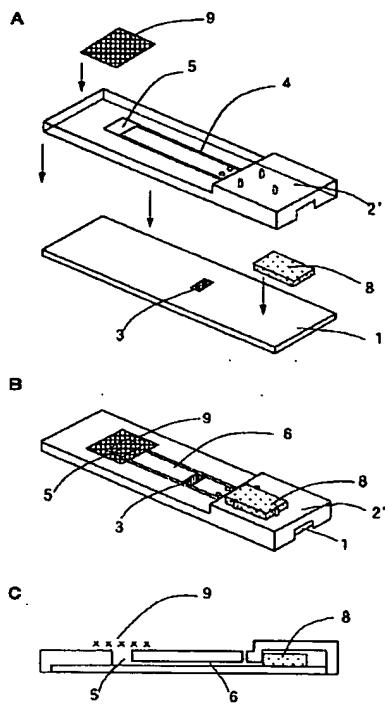
【図5】



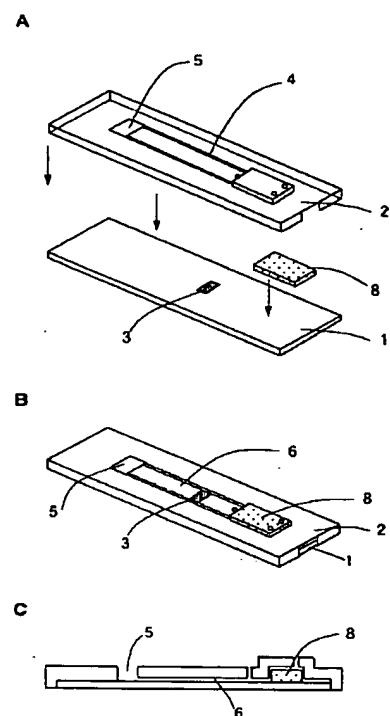
【図6】



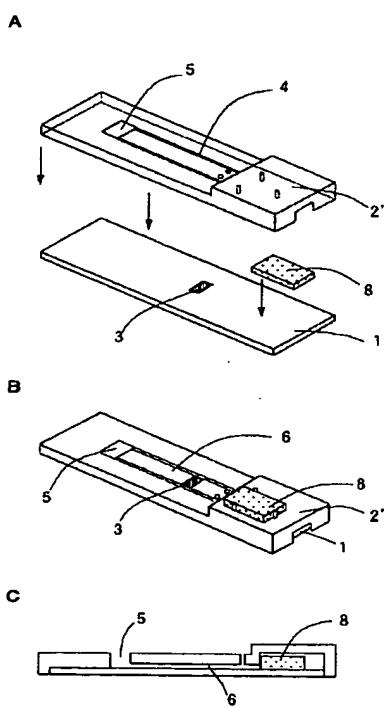
【図7】



【図8】



【図9】



フロントページの続き

F ターム(参考) 2G052 AA06 AA24 AA26 AA28 AC03  
AD46 CA39 CA40 DA08 DA09  
DA12 DA22 EA04 ED03 ED06  
ED16 FD01 FD02 FD20 GA11  
GA25 GA30 HA12 HA19 HB10  
JA08 JA11 JA13 JA14 JA16